

Molecular assembly of amphiphilic poly(propylene sulfide)-block-poly(ethylene glycol) as a platform to control the biointeractiveness of gold and indium-tin-oxide surface

Doctoral Thesis**Author(s):**

Feller, Lydia

Publication date:

2005

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005151491>

Rights / license:

In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

DISS. ETH Nr. 16431

**MOLECULAR ASSEMBLY OF AMPHIPHILIC
POLY(PROPYLENE SULFIDE)-*BLOCK*-
POLY(ETHYLENE GLYCOL) AS A PLATFORM TO
CONTROL THE BIOINTERACTIVENESS OF GOLD
AND INDIUM-TIN-OXIDE SURFACES**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH

for the degree of
DOCTOR OF SCIENCES

presented by

Lydia Feller
Diploma in Materials Science (ETH Zürich) 2001
born on August 5, 1974
citizen of Noflen (BE)

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Marcus Textor, examiner
Prof. Dr. Jeffrey A. Hubbell, co-examiner
Prof. Dr. Dieter Schlüter, co-examiner

Zürich, December 2005

Abstract

Modification of surfaces with the aim of reducing or eliminating non-specific molecular or particle adsorption is a field of high scientific and technological relevance. Applications range from non-fouling surfaces, e.g., in marine environments, to blood-compatible surfaces of biomedical devices such as catheters and stents, to bioaffinity sensor chips, where a non-interactive background contributes to high signal-to-background ratios, to model surfaces for the study of specific cell-surface interactions. Poly(ethylene oxide) (PEO) or poly(ethylene glycol) (PEG) is a materials class that is widely used to reduce non-specific adsorption to surfaces. A particularly successful interfacial architecture for this purpose builds upon a dense array of PEG chains ("polymer brush"). The non-interactive character of such highly hydrated PEG-brush surfaces has been attributed to different mechanisms including steric repulsion, excluded volume and osmotic effects and the particular properties of bound water inside and on top of the PEG brush.

A wide choice of surface modification techniques have been developed to

immobilize PEG chains to surfaces: covalent grafting of single chains ("grafting to" method), polymerization initiated at the surface ("grafting from"), plasma-induced polymerization, spontaneous molecular assembly from solution of molecules or polymers containing oligo-EG or PEG chains, and others. Spontaneous molecular assembly techniques are particularly attractive in view of the simplicity of application ("dip&rinse") and compatibility with the modification of devices that have complex three-dimensional shapes. Copolymers with one component being PEG, both graft and block versions, have been successfully developed, some of which are commercially available and routinely used. Examples include poly(propylene oxide)-PEG block copolymers (PPO-PEG, "PluronicTM") for the modification of hydrophobic surfaces, exploiting hydrophobic-hydrophobic interactions between PPO and the substrate, and polyelectrolyte-PEG graft copolymers for electrostatically driven assembly on oppositely charged surfaces.

The thesis covers the synthesis and characterization of poly(propylene sulfide)-poly(ethylene glycol) (PPS-PEG) block copolymers of different architectures and their application for the surface modifications in the context of applications in the life sciences. A matrix of both di- and triblock polymers were synthesized keeping the PPS block molecular weight constant and varying the length of the PEG chains. The polymers were characterized by NMR, gel permeation chromatography and FT-IR spectroscopy

PPS-PEG is a polymer system of potentially great versatility for the modification of surfaces by spontaneous molecular assembly. The underlying hypothesis is that PPS has two physico-chemical properties, both of which are interesting for exploitation towards immobilization strategies on surfaces of different chemical composition. PPS is very hydrophobic, more so than PPO; PPS-PEG could therefore be a candidate for immobilization to hydrophobic surfaces, as an alternative to the widely used PPO-PEG. Secondly, in view of

the strong interactions between many metals or metal cations with sulfur, PPS is expected to bind to noble metal surfaces such as gold (this has been previously demonstrated), silver and copper as well as to oxides of transition metals that form strong metal-sulfur bonds. In comparison to alkanethiolates that are well known to form ordered self-assembled monolayers on gold and other noble metals through single thiol-metal interactions, immobilization of PPS-based polymers are expected to have two advantages: first, the integral adhesion strength should be higher in view of the multiple binding sites in each polymeric molecule; this should result in improved stability and/or kinetic inertness of PPS-based adlayers in comparison to alkanethiol SAMs. Secondly, thioethers have been shown to be much less prone to oxidation under ambient conditions in comparison to thiols/thiolates; this is expected to result in improved chemical stability and shelf-life.

Following up on the work of J. Bearinger et al, PPS-PEG of different architectures were adsorbed to gold surfaces and the kinetics and endpoints of adsorption quantitatively studied using the well-established techniques surface plasmon resonance (SPR), variable angle spectroscopic ellipsometry (VASE), and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). The PPS-PEG monolayers were then exposed to single protein solutions (human serum albumin, HSA) as well as full human serum, establishing a correlation between polymer architecture, adsorbed polymer mass (the two defining the PEG chain surface density) and adsorbed protein mass. A quantitative correlation could be established, from which the best polymer candidates in terms of their effectiveness in reducing unspecific protein adsorption were selected. The PEG(2k)-PPS(4k)-PEG(2k) symmetric triblock turned out to be the polymer that provided the most consistent non-fouling performance when adsorbed on gold-coated substrates with a 97% and 96% reduction of non-specific HSA and serum adsorption, respectively.

Indium-tin-oxide (ITO)-coated glass slides were chosen as a second type of substrate as ITO combines two advantageous properties, electrical conductivity and optical transparency, making it a preferred substrate in electrochemically controlled (bio)sensor platforms with either electrochemical or optical readout. PPS-PEG was shown to indeed adsorb on ITO surfaces, most likely through strong S-In(III) interactions. The formation of the PPS-PEG monolayers was monitored by a combined ellipsometry, XPS and time-of-flight secondary ion mass spectrometry (ToF-SIMS) study. Upon anodic electrochemical polarization the PPS-PEG adlayers showed an increasing degree of desorption; at a potential of 2000 mV (Ag reference electrode), complete desorption could be observed. No oxidation of the PPS backbone was observed during the anodic polarization up to 2000 mV, again demonstrating the excellent oxidative stability of thioethers. The feasibility of highly controlled, electrostimulated desorption is of relevance for the potential use of the polymer in the fabrication of microarrays with different functionalities on each spot, based on microelectrode arrays, in which the single microelectrodes can be electrically addressed and surface-modified individually.

Adsorption of PPS-PEG on hydrophobic surfaces, PTFE and polystyrene (PS), and on hydrophobic alkanephosphonate SAMs on titanium-oxide-coated substrates proved to be less successful, despite the expected stronger hydrophobic-hydrophobic interaction with PPS in comparison to PPO (e.g., with Pluronics). Only minor amounts of PPS-PEG remained stably adsorbed after rinsing, resulting in submonolayer coverages that were not sufficiently resistant to non-specific adsorption. The reason for these observations remains unclear.

Finally, two different approaches to produce chemical micropatterns on gold were investigated: Firstly, oxidation using UV/ozone through a mask in intimate contact with the PPS-PEG monolayer resulting in the oxidation to sulf-

oxides and/or sulfones of the PPS backbone in the UV-exposed areas and subsequent desorption in a solvent of the oxidized PPS-PEG, which is only loosely (reversibly) adsorbed, in contrast to the strong adhesion of the unoxidized PPS-PEG in the mask-protected areas. Secondly, the established molecular assembly patterning by lift-off (MAPL) technique was combined with PPS-PEG to produce micropatterns of PPS-PEG in a gold background. The latter could be back-filled with oligo(EG)-functionalized alkanethiol monolayers, proving the feasibility of making patterns presenting (bio)ligands in a background that is resistant to non-specific adsorption, once PPS-PEG polymers functionalized with a (bio)ligand grafted to the end of the PEG chains will be available. Although both techniques allowed patterning of the PPS-PEG layers on gold, the second (MAPL) technique turned out to be the preferred technique resulting in more consistent pattern formation and quality.

In view of the great versatility and compatibility with both noble metals and ITO (and possibly many transition metal oxides with strong sulfur-metal cation interaction), it appears worth to continue the development towards the synthesis and application of functionalized PPS-PEG systems, with ligands such as biotin (for specific avidin interactions), peptides (to interact with cell membrane receptors) or oligonucleotides (for DNA/RNA sensing) attached covalently to the termini of the PEG chains in the PPS-PEG block copolymer.

Zusammenfassung

Oberflächenmodifizierungen mit dem Ziel, die unspezifische Adsorption von Molekülen oder Partikeln zu reduzieren oder zu unterbinden, ist ein Gebiet mit grosser wissenschaftlicher und technologischer Relevanz. Anwendungen reichen von biologisch inaktiven ('non-fouling') Oberflächen, zum Beispiel in einer marinen Umgebung, über blutkompatible Oberflächen für biomedizinische Produkte, wie Katheter und Gefässstützen, über Sensorchips, wo ein nicht-interaktiver Hintergrund zu einem hohen Signal-Rausch Verhältnis beiträgt, bis zu Modelloberflächen für das Studium von spezifischen Wechselwirkungen zwischen Zellen und Oberflächen. Polyethylenoxid (PEO), oder Polyethylenglykol (PEG), ist eine verbreitete Materialklasse, um die unspezifische Anlagerung auf Oberflächen zu reduzieren. Eine speziell erfolgreiche Grenzflächenarchitektur wird für diesen Zweck mit einer dichten Anordnung von PEG Ketten ('Bürstenpolymere') gebildet. Der nicht-interaktive Charakter einer solch hoch hydrierten PEG-Bürstenoberfläche wurde unterschiedlichen Mechanismen, einschliesslich der sterischen Abstossung, dem ausgeschlossenen Volumen, den osmotischen Effekten und den einzigartigen Eigenschaften

von Wasserbindungen in und auf der PEG-Bürste zugeschrieben.

Es wurde eine breite Auswahl von Techniken zur Modifizierung von Oberflächen entwickelt, um die PEG-Ketten auf eine Oberfläche zu binden: kovalente Bindung von einzelnen Ketten ('grafting to' Methode), Polymerisation initiiert an der Oberfläche ('grafting from'), Plasma-induzierte Polymerisation, spontane Anlagerung von Molekülen aus einer Lösung, die Oligo-EG oder Poly-EG enthalten, und andere. Die spontane Anlagerungstechnik von Molekülen ist im Speziellen interessant wegen ihrer Einfachheit (eintauchen und spülen) und der Verträglichkeit der Modifikation mit komplexen dreidimensionalen Oberflächengeometrien. Es wurden erfolgreich kommerziell verfügbare Copolymere entwickelt, deren eine Komponente PEG ist (als Block oder gepfropft) und breite Verwendung finden. Beispiele beinhalten Polypropylenoxid-PEG Block-Copolymere (PPO-PEG, 'PlurionsTM') für die Modifikation von hydrophoben Oberflächen zur Untersuchung von hydrophoben-hydrophoben Wechselwirkungen zwischen PPO und dem Substrat, und Polyelektrolyt-PEG gepfropfte Copolymere für eine elektrostatisch gesteuerte Anlagerung an gegensätzlich geladenen Oberflächen.

Diese Dissertation deckt die Synthese und Charakterisierung von Poly(propylensulfid)-*block*-poly(ethylenglycol) (PPS-PEG) Block-Copolymeren verschiedener Architekturen und deren Verwendbarkeit für die Oberflächenmodifizierung im Zusammenhang mit Anwendungen in 'life science' ab. Eine Matrix von Di- und Tri- Block-Copolymeren wurde synthetisiert, wobei das Molekulargewicht des PPS-Blocks konstant gehalten und die Länge der PEG-Ketten variiert wurde. Die Polymere wurden mit NMR, Gel Permeations Chromatografie und FT-IR Spektroskopie charakterisiert.

PPS-PEG ist ein Polymersystem von potentiell grosser Vielseitigkeit für die Modifizierung von Oberflächen durch spontane molekulare Anlagerung. Die zugrunde liegende Hypothese ist, dass PPS zwei physikalisch-chemische

Eigenschaften hat, welche beide als Immobilisierungsstrategie an Oberflächen mit unterschiedlichen chemischen Zusammensetzungen interessant sind. Erstens ist PPS sehr hydrophob, mehr als PPO; PPS-PEG könnte darum ein Kandidat für die Anlagerung an hydrophoben Oberflächen sein, als eine Alternative zum weit verbreiteten PPO-PEG. Zweitens, unter dem Aspekt der starken Interaktion zwischen verschiedenen Metallen oder Metallkationen und Schwefel, wird erwartet, dass sich PPS sowohl mit Edelmetalloberflächen wie Gold (wurde bereits vorher gezeigt), Silber und Kupfer bindet, als auch mit Oxiden der Übergangsmetalle, die eine starke Metall-Schwefel-Bindung bilden. Im Vergleich zu den Alkanthiolen, die dafür bekannt sind, dass sie geordnete selbstorganisierende Monoschichten auf Gold und anderen Edelmetallen durch eine einzelne Thiol-Metall-Wechselwirkung bilden, werden vom PPS-basierten Polymer zwei Vorteile erwartet: erstens, die gesamte Adhäsionsstärke sollte wegen der multiplen Bindungsstellen in jedem einzelnen Molekül stärker sein; dies sollte in einer verbesserten Stabilität und/oder im Vergleich zu den Alkanthiol-SAM zu einer grösseren kinetischen Trägheit von PPS-basierten Schichten resultieren. Zweitens, im Vergleich zu Thiolen/Thioaten haben sich Thioether als viel weniger anfällig gegenüber Oxidation unter Umgebungsbedingungen erwiesen; es wird erwartet, dass dies zu einer verbesserten chemischen Stabilität und Lagerfähigkeit führt.

Der Arbeit von J. Bearinger et al. folgend, wurden verschiedene Architekturen von PPS-PEG auf Goldoberflächen angelagert und die Kinetik und die Endwerte der Adsorption quantitativ studiert, unter Verwendung von gut etablierten Techniken wie Oberflächenplasmonenresonanz (SPR), Einfallswinkelabhängige spektroskopische Ellipsometrie (VASE) und Röntgenphotoemissions-Spektroskopie (XPS). Die PPS-PEG Monoschichten wurden einer Proteinlösung eines einzelnen Proteins (Humanes Serum Albumin, HSA) als auch vollem Serum ausgesetzt, wobei ein Zusammenhang zwischen Polymerarchitektur, adsorbierter Polymermasse (die beiden definieren die PEG-

ketten Oberflächendichte) und der adsorbierten Masse der Proteine aufgezeigt wurde. Ein quantitativer Zusammenhang konnte hergestellt werden, aus dem die beste Polymerarchitektur bezüglich ihrer Effektivität zur Reduzierung der unspezifischen Adsorption ausgesucht wurde. Das symmetrische PEG(2k)-PPS(4k)-PEG(2k) Triblock stellte sich als das Polymer heraus, das die konsistenteste Proteinresistenz hatte (Reduktion für unspezifisches HSA und Serum Adsorption um 97%, beziehungsweise 96%), nachdem es auf goldbeschichteten Substraten adsorbiert worden ist.

Indium-Zinn-Oxid (ITO) beschichtete Plättchen wurden als ein zweiter Typ von Substraten ausgewählt, weil ITO zwei vorteilhafte Eigenschaften kombiniert: seine elektrische Leitfähigkeit und optische Transparenz machen es zu einem bevorzugten Substrat für elektrochemisch kontrollierte (Bio)Sensor-Plattformen mit entweder optischer oder elektrochemischer Detektion. Es hat sich gezeigt, dass sich PPS-PEG tatsächlich auf ITO Oberflächen anlagert, höchstwahrscheinlich durch eine starke S-In(III) Wechselwirkung. Die Bildung einer PPS-PEG-Schicht wurde in einer Kombination aus Ellipsometrie, Röntgenphotoemissions-Spektroskopie (XPS) und Flugzeit-Sekundärionenspektroskopie (ToF-SIMS) studiert. Nach einer elektrochemischen Polarisation zeigten die PPS-PEG-Schichten einen steigenden Grad an Desorption; bei einem Potential von 2000 mV (Silber als Referenzelektrode), konnte eine komplette Desorption beobachtet werden. Es wurde keine Oxidation des PPS-Rückgrades während der anodischen Polarisation bis 2000 mV beobachtet, was die gute Stabilität der Thioether gegenüber Oxidation zeigt. Die Machbarkeit einer gut kontrollierten, elektrostimulierten Desorption ist relevant für den potentiellen Gebrauch des Polymers in der Herstellung von Mikroarrays. Durch unterschiedliche Funktionalitäten an jedem Spot, können die einzeln angeordneten Mikroelektronen elektrisch angesteuert und individuell oberflächenmodifiziert werden.

Die Adsorption von PPS-PEG auf hydrophoben Oberflächen wie PTFE,

Polystyrol (PS) oder auf hydrophoben Alkanphosphat-SAMs auf titanoxidbeschichteten Oberflächen hat sich als weniger erfolgreich erwiesen, trotz der erwarteten stärkeren hydrophoben-hydrophoben Wechselwirkung von PPS im Vergleich zu PPO (beispielsweise Pluronic). Nur geringe Mengen einer submolekularen Schicht von PPS-PEG blieben nach einem Spülvorgang stabil angelagert, die ungenügend resistent gegen unspezifische Adsorption ist. Die Ursache für diese Beobachtungen bleibt unklar.

Schliesslich wurden zwei unterschiedliche Strategien zur Herstellung einer chemischen Strukturierung auf Gold untersucht. Erstens: die Oxidation unter Verwendung von UV/Ozon durch eine Maske in direktem Kontakt mit der PPS-PEG Schicht ergab eine Oxidation des PPS-Rückgrades zu Sulfoxid und/oder Sulfon an den UV-exponierten Stellen. Das oxidierte PPS-PEG, welches nur lose (reversibel) adsorbiert ist, konnte in einem Lösungsmittel desorbiert werden, im Gegensatz zum unoxidierten PPS-PEG in den von der Maske geschützten Bereichen. Zweitens: die etablierte Technik der Strukturierung durch molekulare Anlagerung und ein selektives Wiederentfernen (MAPL) wurde mit PPS-PEG kombiniert, um eine Mikrostrukturierung von PPS-PEG mit einem Goldhintergrund herzustellen. Letzterer kann mit Oligo-EG-funktionalisierten Alkanthiol-Monoschichten aufgefüllt werden. Daraus ergibt sich die Möglichkeit, mit Hilfe von funktionalisierten PPS-PEG-Molekülen (d.h. am Ende der PEG-Kette wird ein (Bio)Ligand angekoppelt) an geometrisch definierten Stellen (Bio)liganden anzubieten, wobei der Rest der Oberfläche einer unspezifischen Adsorption widersteht. Obwohl beide Techniken eine Strukturierung der PPS-PEG-Schicht auf dem Gold erlauben, stellte sich die zweite Technik (MAPL) als die bevorzugte heraus, weil sie eine konsistentere Strukturierung und Qualität ergibt.

Aufgrund seiner Vielseitigkeit und Vereinbarkeit mit Edelmetallen und ITO (und möglicherweise vielen anderen Übergangsmetallen mit einer starken

Schwefel-Metallkation Wechselwirkung), scheint ein Weiterführen der Entwicklung der Synthese und die Anwendung eines funktionalisierten PPS-PEG-Systems angebracht. Bindungselemente wie Biotin (für eine spezifische Avidin Wechselwirkung), Peptide (für die Wechselwirkung mit Rezeptoren der Zellmembrane) oder Oligonukleotide (für die DNA/RNA-Detektion) wären mögliche Kandidaten, welche kovalent an das Ende der PEG-Ketten des PPS-PEG Block-Copolymers gebunden werden könnten.